

Eficiência simbiótica de rizóbios isolados de áreas de restinga em *Phaseolus vulgaris* cv. Tangará

Edenilson Meyer^{(1)*}, Andressa Danielli Canei⁽²⁾, Rafael Dutra de Armas⁽³⁾, Cláudio Roberto Fonseca Sousa Soares⁽⁴⁾

⁽¹⁾ Acadêmico do curso de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina. Rod. Admar Gonzaga, 1346, Bairro Itacorubi, CEP 88040-900, Florianópolis, SC, Brasil.

⁽²⁾ Mestranda em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal de Santa Catarina. Rod. Admar Gonzaga, 1346, Bairro Itacorubi, CEP 88040-900, Florianópolis, SC, Brasil.

⁽³⁾ Pós Doutorando em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal de Santa Catarina. Rod. Admar Gonzaga, 1346, Bairro Itacorubi, CEP 88040-900, Florianópolis, SC, Brasil. Co-orientador

⁽⁴⁾ Professor adjunto do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia (MIP/CCB) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Rua João Pio Duarte Silva, 241, Bairro Córrego Grande, CEP 88037-000, Florianópolis, SC, Brasil. Orientador

*Autor correspondente – Email: edenilsonmeyer@hotmail.com

Resumo

Os rizóbios realizam fixação biológica de nitrogênio em simbiose com diversas leguminosas, promovendo um melhor desenvolvimento das mesmas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento e a eficiência simbiótica de rizóbios isolados de áreas de Restinga em *Phaseolus vulgaris* cv. Tangará em relação à estirpe CIAT 899 recomendada para a cultura. Para isto, foram avaliados 14 tratamentos em um experimento inteiramente casualizado com 4 repetições em casa de vegetação utilizando-se vasos Leonard, sendo testados 11 isolados de rizóbios autóctones de áreas de restinga, um tratamento com alto N, um com baixo N e outro com a estirpe recomendada. Avaliou-se a massa seca da parte aérea e de raízes, número e massa seca de nódulos, teor e acúmulo de N e eficiência simbiótica. Os isolados de áreas de restinga foram capazes de nodular o *Phaseolus vulgaris* cv. Tangará. Dentre os isolados testados, o RM69 se mostrou eficiente na promoção de crescimento vegetal, acúmulo de nitrogênio na parte aérea do feijoeiro e eficiência simbiótica de 115 %, apresentando desempenho semelhante à estirpe recomendada, mostrando-se promissor para uso em estudos futuros em diferentes condições à campo.

Palavras chave: Feijão-comum, inoculação, Bactérias Fixadoras de Nitrogênio.

Symbiotic efficiency of rhizobia salt marsh areas in *Phaseolus vulgaris* cv. Tangará

Abstract

Rhizobium perform biological nitrogen fixation in symbiosis with various legumes, promoting better development of the same. The objective of this study was to evaluate the growth and symbiotic efficiency of rhizobia isolated from Restinga areas in *Phaseolus vulgaris* cv. Tangará regarding CIAT 899 strain recommended for culture. For this, 14 treatments we evaluated in a completely randomized design with four replications in a greenhouse using Leonard vessels being tested 11 isolates of indigenous rhizobia sandbank areas, treatment with N high, with low N and the other with the recommended strain. We evaluated the dry mass of shoots and roots, number and nodule dry weight, the content and the accumulation of N and symbiotic efficiency was evaluated. The isolated salt marsh areas were able to nodular the *Phaseolus vulgaris* cv. Tangará. Among the isolates tested, the RM69 was efficient in promoting plant growth, nitrogen accumulation in shoots bean and symbiotic efficiency of 115%, with performance similar to the recommended strain, proving to be promising for use in future studies in different conditions the field.

Key words: Common beans, inoculation, nitrogen-fixing bacteria

Introdução

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*) é reconhecido por ser uma excelente fonte de proteínas, carboidratos e minerais, especialmente o Fe. Juntamente com o arroz constitui a alimentação básica do brasileiro, principalmente para a população de baixa renda. Além da importância nutricional o feijão possui grande importância econômico-social em razão de ser amplamente cultivado, bem como pela necessidade de mão-de-obra empregada durante o ciclo da cultura, gerando fonte de renda e emprego para a população. Estima-se que a produção do feijão envolva cerca de 295.000 produtores apenas em Minas Gerais (CARNEIRO et al., 2015).

No Brasil, maior produtor e consumidor da leguminosa, o feijão está colocado como a quarta cultura mais produzida no país, perdendo somente para a soja, milho e cana-de-açúcar (CARNEIRO et al., 2015). Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB (2015), a produção brasileira de feijão na safra 2014/2015 foi de 3,19 milhões de

toneladas, sendo em sua maior parte produzido por pequenos e médios agricultores, com baixo nível tecnológico. Os estados que se destacam na produção de feijão são Paraná e Minas Gerais, respondendo por aproximadamente 39 % da produção nacional. O estado de Santa Catarina é o sétimo maior produtor nacional, tendo na safra 2014/2015 uma área plantada de 72.900 ha, produção de 139.100 toneladas e produtividade de 1.908 kg/ha (quarta maior produtividade nacional).

No Brasil são cultivados o feijão-comum (*P. vulgaris*) presente em todo o território nacional e o feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) presente principalmente na Região Norte e Nordeste (SALVADOR, 2014). As principais cultivares de feijão-comum são as do grupo carioca, seguidas pelas do grupo preto. Dentre as cultivares do grupo carioca destaca-se a cultivar IPR Tangará que apresenta hábito de crescimento indeterminado, ciclo médio de 87 dias e potencial produtivo de 3.326 kg/ha. A cultivar também apresenta resistência ao mosaico comum, a murcha de *curtobacterium*, a murcha de *fusarium* e a ferrugem, bem como resistência moderada ao oídio e a mancha angular (IAPAR, 2015).

Apesar da sua importância, devido a pequena profundidade de exploração das raízes e o curto ciclo de vida do feijoeiro, a baixa disponibilidade de nutrientes no solo (principalmente N e P) é um dos principais fatores responsáveis pela baixa produtividade desta cultura em alguns solos brasileiros. Dentre os nutrientes essenciais ao feijoeiro, o N é o exigido em maiores quantidades, pois é essencial para a síntese de proteínas. As principais fontes de N para a cultura são o solo (através da decomposição da matéria orgânica), a aplicação de fertilizantes nitrogenados e a fixação biológica de nitrogênio (FBN) (FERREIRA et al., 2004).

A matéria orgânica do solo é uma excelente fonte de N, no entanto, é escassa na maioria dos solos brasileiros, não suprimindo a quantidade necessária para o desenvolvimento das culturas. O uso da adubação nitrogenada, no entanto, além do elevado custo, possui um aproveitamento muito baixo pelas culturas, sendo que, mais de 50 % do N aplicado é perdido, sendo parte lixiviado, atingindo o lençol freático, aquíferos subterrâneos, rios e lagos, e parte perdido por volatilização, desencadeando sérios danos ambientais (MERCANTE et al., 1999). O uso de fertilizantes a base de ureia e nitrato de amônio, a partir da lixiviação, causam a acidificação progressiva dos solos e eutrofização de cursos hídricos, bem como pela volatilização aumentam os riscos de ocorrência de chuvas ácidas (DILWORTH e MICHAEL, 2008).

Uma alternativa para o fornecimento de N para as culturas é a FBN, a qual é economicamente viável e ambientalmente segura. De acordo com estimativas realizadas por Vitousek et al. (2013), são introduzidos entre 40 a 100 Tg de N por ano aos sistemas terrestres via FBN. Dentre as bactérias que realizam esse processo, destacam-se os rizóbios que se associam às leguminosas, os quais são sabidamente importantes para a promoção do crescimento do feijoeiro. Essa importância é reconhecida, tanto que o MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), selecionou uma estirpe recomendada para o feijoeiro, a CIAT 899 (*Rhizobium tropici*).

No entanto, estudos demonstram que esta bactéria não é efetiva como inoculante para o feijoeiro, estando associado ao caráter de promiscuidade da cultura, favorecendo a simbiose com estirpes nativas altamente competitivas e, na maioria das vezes, de baixa eficiência na FBN (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Além disso, os genes responsáveis pela nodulação e FBN em *Rhizobium* spp. estão situados no plasmídeo o qual é susceptível às alterações edafo-climáticas como a temperatura, principalmente quando se trata do sistema radicular do feijoeiro que é bastante superficial. Desta forma, é necessária a seleção de estirpes de *Rhizobium* spp. mais resistentes às condições de estresse de modo a evitar a perda destas características genéticas importantes para a nodulação e eficiência simbiótica no feijoeiro (CHEN et al., 2005; MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Outro motivo a ser considerado é que o melhoramento genético das cultivares de feijão, ao longo de anos, foi direcionado ao desenvolvimento de cultivares que respondam com maior eficiência à fertilizantes nitrogenados, o que sabidamente possui influência negativa sobre a FBN (ANDRADE et al., 2001).

Dessa maneira ainda não foi selecionado um isolado totalmente eficiente no suprimento de N mineral para o feijoeiro, como já ocorre para a cultura da soja (PELEGRIN et al., 2009; SILVA et al., 2009). Considerando que um dos problemas está relacionado com a baixa competitividade e adaptabilidade das estirpes recomendadas para o feijoeiro, uma das alternativas está em selecionar isolados de áreas com condições edáficas bastante adversas como, por exemplo, áreas de Restinga. Estas áreas caracterizam-se por solos arenosos, susceptíveis a déficit hídrico, normalmente com baixos teores de matéria orgânica, consequentemente com baixa disponibilidade de nutrientes e elevada salinidade e Al^{3+} (SOMMER e ROSATELLI, 1991; SCARANO et al., 2001; BONILHA et al., 2012; MAGNAGO et al., 2010). Além disso, áreas de Restinga abrigam diversas espécies leguminosas que se associam com rizóbios, o que aumenta o potencial de isolamento de

bactérias eficientes na FBN, competitivas e com boa adaptabilidade (MELO JÚNIOR e BOEGER, 2015; FERREIRA, 2010).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência simbiótica de rizóbios isolados de áreas de Restinga em *P. vulgaris* cv. Tangará, quando comparada à estirpe CIAT 899 recomendada para a cultura.

Material e Métodos

O experimento foi realizado em casa de vegetação da Divisão de Microbiologia dos Solos do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da Universidade Federal de Santa Catarina, empregando-se vasos de Leonard com capacidade de 500 cm³ para o cultivo do feijão (VICENT, 1970). Os vasos receberam na parte superior substrato contendo areia e vermiculita na proporção 1:2 (v/v), enquanto na parte inferior foi adicionada solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), específica para cada tratamento, diluída 4 vezes, sendo o conjunto autoclavado a 121 °C por 60 minutos.

Foram avaliados 14 tratamentos de inoculação do feijoeiro em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo: 11 isolados de rizóbios provenientes de solos de áreas de restinga do Parque Estadual do Rio Vermelho, Florianópolis-SC; uma estirpe recomendada (CIAT 899 = *Rhizobium tropici*) e dois controles não inoculados, sendo um com alto N (52,5 mg/L) e um com baixo N (5,25 mg/L). No tratamento controle com alto N foi utilizada solução nutritiva estéril de Hoagland e Arnon (1950) diluída 4 vezes contendo: 34,02 mg/L de KH₂PO₄; 137,64 mg/L de KNO₃; 250,11 mg/L de Ca(NO₃)₂; 60,18 mg/L de MgSO₄; micronutrientes (0,717 mg/L de H₃BO₃; 0,453 g/L de MnCl₂; 0,055 mg/L de ZnSO₄.7H₂O; 0,02 mg/L de CuSO₄.5H₂O; 0,005 mg/L de NaMoO₄.4H₂O) e Fe-EDTA (6,03 mg/L de FeSO₄.7H₂O e 6,27 mg/L de EDTA). Para os tratamento com baixo N e com inoculação de BFN foi utilizada solução nutritiva Hoagland e Arnon (1950) com baixo N, diluída 4 vezes, onde substituiu-se o KNO₃ e o Ca(NO₃)₂ por 93,20 mg/L de KCl e 138,73 mg/L de CaCl₂, além da adição de 15 mg/L de NH₄NO₃. O pH da solução foi ajustado para 6,5 e esterilizada 121 °C por 15 minutos.

Os isolados de rizóbio avaliados são oriundos de duas áreas de restinga arbórea em estágio avançado de regeneração, uma que sofre inundações ocasionais (Restinga Sujeita a Inundação - RI) e outra não inundável (Restinga Seca – RS) e uma área de restinga

herbácea sob influência marinha (Restinga Marinha – RM) do Parque Estadual do Rio Vermelho. As características químicas do solo de onde foram isolados e plantas isca utilizadas na captura dos rizóbios encontram-se na Tabela 1, e os procedimentos de isolamento descritos em Canei (2014)

Tabela 1. Caracterização química do solo das áreas de restinga do Parque Estadual do Rio Vermelho, Florianópolis, SC, onde foram isolados os rizóbios e planta-isca utilizadas para captura das bactérias.

Área de coleta	Análise química*	Isolados testados	Planta isca utilizada para isolamento*
Restinga marinha (RM)	$pH_{H_2O} = 5,23$ $H + Al = 2,02 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ $Al = 6,21 \text{ mg dm}^{-3}$ $K = 3,52 \text{ mg dm}^{-3}$ $Na = 12,20 \text{ mg dm}^{-3}$ $Mg = 1,11 \text{ mg dm}^{-3}$ $COT^1 = 7,89 \text{ g kg}^{-1}$	RM8	<i>P. vulgaris</i>
		RM9	<i>P. vulgaris</i>
		RM21	<i>V. unguiculata</i>
		RM27	<i>V. unguiculata</i>
		RM42	<i>P. vulgaris</i>
		RM69	<i>P. vulgaris</i>
Restinga sujeita a inundação (RI)	$pH_{H_2O} = 4,64$ $H + Al = 4,17 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ $Al = 7,87 \text{ mg dm}^{-3}$ $K = 1,90 \text{ mg dm}^{-3}$ $Na = 8,30 \text{ mg dm}^{-3}$ $Mg = 0,73 \text{ mg dm}^{-3}$ $COT = 13,90 \text{ g kg}^{-1}$	RI113	<i>V. unguiculata</i>
Restinga seca (RS)	$pH_{H_2O} = 3,87$ $H + Al = 33,87 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ $Al = 10,46 \text{ mg dm}^{-3}$ $K = 4,87 \text{ mg dm}^{-3}$ $Na = 14,14 \text{ mg dm}^{-3}$ $Mg = 1,94 \text{ mg dm}^{-3}$ $COT = 29,58 \text{ g kg}^{-1}$	RS134	<i>P. vulgaris</i>
		RS146	<i>V. unguiculata</i>
		RS152	<i>V. unguiculata</i>
		RS156	<i>V. unguiculata</i>

* Análises químicas do solo e isolamento dos rizóbios realizado por Canei (2014).

¹ COT = Carbono orgânico total.

Previamente a inoculação, os rizóbios foram crescidos em meio de cultura Extrato de Levedura-manitol (YM) (VICENT, 1970) contendo Manitol (10,0 g/L), K_2HPO_4 (0,50 g/L), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (0,2 g/L), NaCl (0,10 g/L) e extrato de levedura (0,50 g/L) e pH 6,8. Após a montagem dos vasos de Leonard foi realizada a semeadura do feijão, sendo as sementes previamente desinfestadas pela imersão em etanol 70 % por 30 segundos, após, em hipoclorito de sódio 2 % por dois minutos e lavadas seis vezes em água destilada

estéril. Em seguida as sementes foram submetidas à germinação em placa de Petri com algodão úmido (autoclavado) em BOD a 28 °C por 12 horas, para então serem semeadas três sementes por vaso de Leonard (VICENT, 1970).

Juntamente com a semeadura das sementes de feijão foi adicionado, por vaso, sobre as sementes, 1 mL de inóculo das bactérias pré-crescidas em meio YM durante 48 horas em incubadora com agitação a 135 rpm e 28 °C. A quantificação do crescimento bacteriano foi realizada em espectrofotômetro BEL Photonics SP 1105 (Piracicaba, Brasil) a 540 nm e para cada isolado foi garantida uma Densidade Ótica (DO) de 0,5.

Para evitar contaminação nos vasos, após a emergência das plântulas e emissão das primeiras folhas verdadeiras, foi aplicada uma fina camada ($\pm 0,5$ cm) de uma mistura de areia (10 kg), clorofórmio (900 mL) e parafina (10 g). Seis dias após a germinação efetuou-se o desbaste deixando somente uma planta por vaso. A solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), específica para cada tratamento, foi renovada semanalmente nos vasos, a fim de evitar alterações no teor de nutrientes na solução ao decorrer do experimento.

A colheita das plantas foi realizada 42 dias após a emergência (DAE) para determinação da produção da matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca das raízes (MSR), número de nódulos (NN), matéria seca de nódulos (MSN), teor de nitrogênio (TN), acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA) e eficiência simbiótica (ES). Após a colheita, as plantas e os nódulos (após serem retirados e contados) foram submetidos à secagem em estufa com circulação de ar a 65 °C até atingir peso constante. A MSPA foi moída e submetida a digestão para posterior determinação de N de acordo com a metodologia de Tedesco (1995) para determinação de macronutrientes em plantas e resíduos orgânicos. A ES dos tratamentos inoculados foi calculada em relação ao acúmulo de N através da fórmula, $ES = (N \text{ total fixado no T inoculado} - N \text{ total fixado no T SN}) / (N \text{ total fixado T CN} - N \text{ total fixado no T SN}) * 100$ (CHAGAS JUNIOR et al., 2010), onde T = Tratamento; SN = tratamento com baixo N e CN = Tratamento com alto N.

As variáveis NN e MSN foram normalizadas e homogeneizadas a partir da transformação $(X+0,5)^{0,5}$. Posteriormente, os dados foram submetidos a análise de variância utilizando o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2011). O agrupamento das médias, através do teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade. A correlação (Pearson) foi avaliada ao nível de 1 % de probabilidade pelo teste *t*. Gráficos contendo barras com o

erro-padrão da média foram gerados utilizando o software Sigma-Plot v. 12 (Systat Corp., San Jose, USA).

Resultados e Discussão

Para os tratamentos não inoculados não foi verificada a presença de nódulos, indicando a ausência de contaminação no experimento. O NN foi maior para os tratamentos, RI113, RM69, RM27 e CIAT 899, enquanto que MSN foi maior nos tratamentos RM69 e CIAT 899 (Figura 1). O fato dos tratamentos RM27 e RI113 se destacarem no NN e não na MSN pode estar relacionado ao menor tamanho dos nódulos formados por estes isolados. Esse fato deve ser considerado como aspecto importante para promoção de crescimento vegetal por estes isolados, visto que, a variável NN apresentou-se menos relacionada à produtividade de matéria seca do feijoeiro em relação a MSN.

Para MSPA, os isolados que mais se destacaram foram o RM69 e a CIAT 899 que proporcionaram incremento médio na MSPA do feijão estatisticamente igual ao tratamento CN e de 286 % superior ao tratamento SN (Figura 1). Os isolados RM8, RM9, RM27, RM42, RI113, RS152 e RS156 proporcionaram um incremento na MSPA estatisticamente superior ao tratamento SN na ordem de 94 % em média. Já os isolados RM21, RS134 e RS146 não diferiram em relação ao tratamento SN, demonstrando a baixa capacidade de promoção de crescimento destes isolados quando associados com a variedade em questão.

Já para a MSR, os tratamentos que apresentaram maior incremento foram o CN, RM9, RM27, RM69 e RS146, (Figura 1). Esse maior crescimento das raízes do tratamento CN pode estar ligado ao maior fornecimento de NO_3 pela solução nutritiva às plantas desse tratamento em relação aos demais. Alguns trabalhos demonstram que a medida que aumenta a quantidade de N fornecido à planta sob a forma de NO_3 , também aumentam os níveis de Ácido Indol Acético (AIA) e, conseqüentemente, maior crescimento das raízes das plantas, em comparação ao fornecimento de N sob a forma de NH_4 (KUDOYAROVA et al., 1997; LIU, 2010). Já para os tratamentos inoculados que apresentaram maior MSR deve-se considerar a possibilidade de produção de AIA pelos rizóbios que possui efeito sobre o crescimento das raízes das plantas (FUKAKI et al., 2007; JIN et al., 2012). Zafar et al. (2012) ao avaliar a eficiência de rizóbios em lentilha verificou correlação positiva entre NN e produção de AIA e entre produção de AIA e comprimento de raízes.

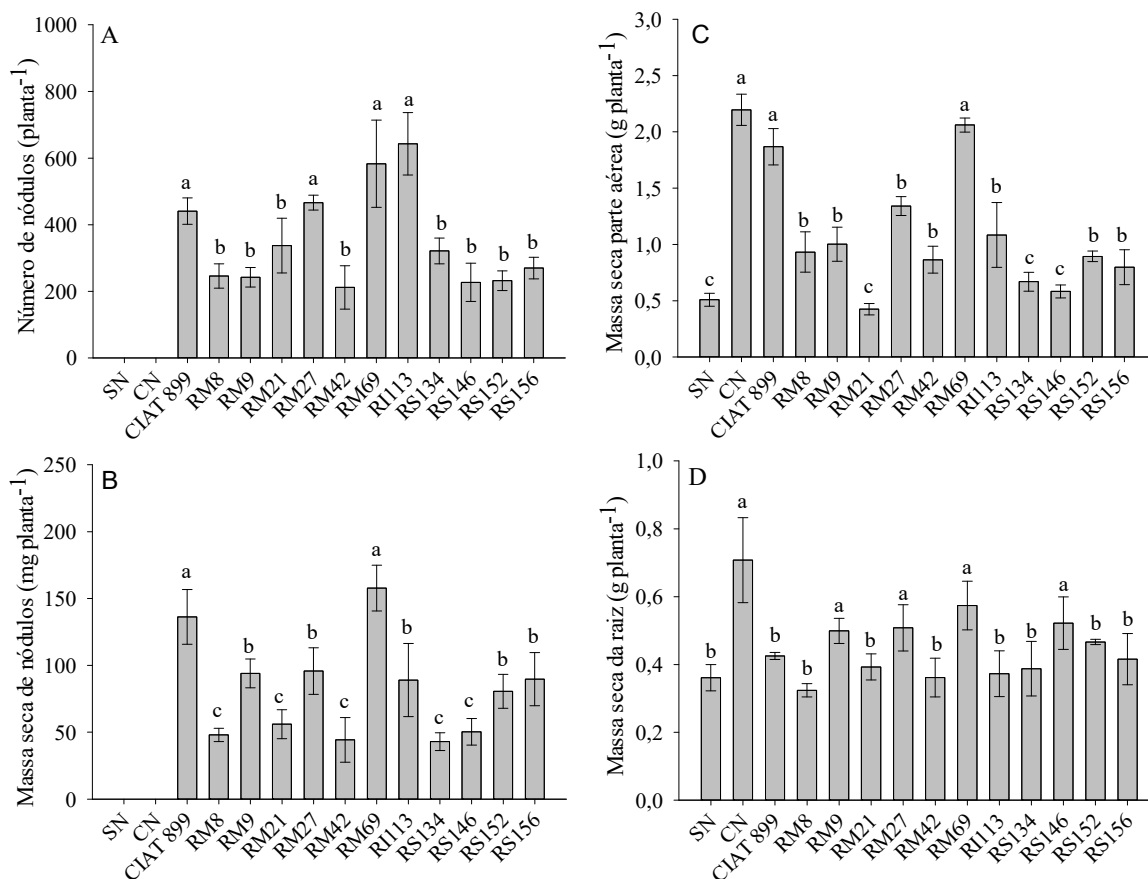


Figura 1. Número de nódulos (NN) (A), massa seca de nódulos (MSN) (B), massa seca da parte aérea (MSPA) (C) e massa seca das raízes (MSR) (D) do feijão (*Phaseolus vulgaris* cv. Tangará) com a inoculação de diferentes isolados de rizóbio do Parque Estadual do Rio Vermelho (Florianópolis-SC), uma estirpe recomendada para a cultura (CIAT 899) e dois tratamentos não inoculado, sendo um com baixo N (SN) e um com alto N (CN). Os gráficos apresentam barras de erro padrão da média (n=4).

O teor de N na parte aérea variou entre 17,6 (tratamento SN) a 23,8 g kg⁻¹ (tratamento RM27), não diferindo estatisticamente entre os tratamentos. Segundo Dourado Neto e Fancelli (2000), os teores críticos de N na folha do feijoeiro comum variam entre 20,0 a 30,0 g kg⁻¹. Os teores de N abaixo do crítico são possivelmente em função do efeito de diluição na biomassa vegetal. Percebe-se um possível efeito de diluição do teor de N nos tratamentos com maior produção de MSPA (CN, RM69 e CIAT 899) em relação aos demais tratamentos com menor produção de MSPA. Esse efeito de diluição pode ser verificado em estudo realizado por Ferreira et al. (2009), avaliando a eficiência da

inoculação do feijão com diferentes isolados de rizóbio, onde os autores não encontraram diferenças significativas para TN, mesmo tendo verificado diferenças na produtividade de grãos entre os tratamentos inoculados.

Houve diferenças no acúmulo de N na parte aérea (ANPA) das plantas (Figura 2), sendo os tratamentos RM69 e CIAT 899 os que mais se destacaram, não diferindo do tratamento CN. Os tratamentos RM69 e CIAT 899 apresentaram médias superiores ao tratamento SN e ao tratamento RM27 na ordem de 479 % e 134 %, respectivamente. Dentre os demais tratamentos, RM27 teve um desempenho médio, proporcionando um incremento na ordem de 357 % em relação ao tratamento SN. Já os tratamentos RM8, RM9, RM42, RI113, RS152 e RS156 apresentaram, em média, 123 % mais ANPA, enquanto os tratamentos RM21, RS134 e RS146 não diferiram do tratamento SN. O fornecimento de N é muito importante para o crescimento das plantas, pois ele está envolvido em diversos processos fisiológicos, tais como fotossíntese, respiração, desenvolvimento e atividade das raízes, absorção iônica de outros nutrientes, diferenciação celular e genética (MARSCHNER, 2012; TAIZ e ZEIGER, 2013).

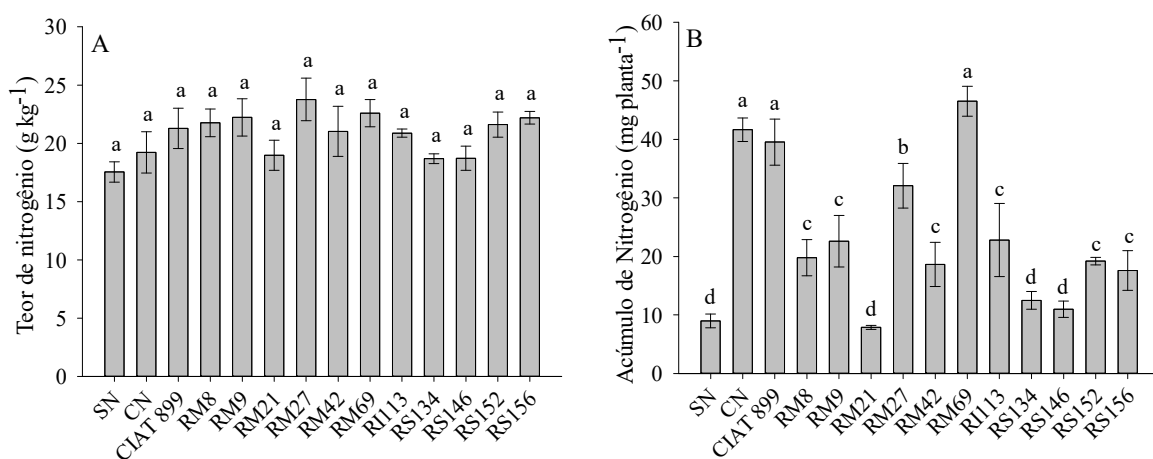


Figura 2. Teor (TN) (A) e acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA) (B) do feijão (*P. vulgaris* cv. Tangará) com a inoculação de diferentes isolados de rizóbio do Parque Estadual do Rio Vermelho (Florianópolis-SC), uma estirpe recomendada para a cultura (CIAT 899) e dois tratamentos não inoculados, sendo um com baixo N (SN) e um com alto N (CN). Os gráficos apresentam barras de erro padrão da média (n=4).

Para a eficiência simbiótica (ES) os isolados que mais se destacaram foram RM69 e CIAT 899, apresentando eficiência simbiótica de 115 % e 94 %, respectivamente, maior em relação ao tratamento SN (Figura 3). Já os demais tratamentos, todos apresentaram ES menor que a estirpe recomendada para a cultura.

Deve-se considerar também que os isolados testados podem ter promovido o crescimento das plantas através da produção de fitormônios (AHEMAD e KIBRET, 2014; THAJUDDIN et al., 2015). Para avaliar possíveis mecanismos envolvidos na promoção de crescimento vegetal deve-se realizar novos ensaios para determinar a produção de fitohormônios, solubilização de fosfatos e sideróforos por estes isolados.

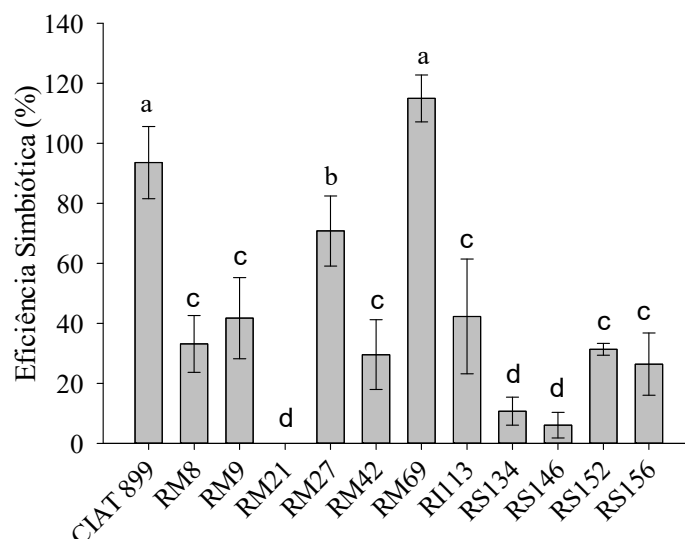


Figura 3. Eficiência simbiótica do feijão (*P. vulgaris* cv. Tangará) com a inoculação de diferentes isolados de rizóbio do Parque Estadual do Rio Vermelho (Florianópolis-SC), uma estirpe recomendada para a cultura (CIAT 899) e dois tratamentos não inoculados, sendo um com baixo N (SN) e um com alto N (CN). Os gráficos apresentam barras de erro padrão da média (n=4).

De maneira geral os tratamentos RM69 e CIAT 899 foram os que mais destacaram para os parâmetros de eficiência (NN, MSN, MSPA, ANPA e ES) (Figuras 1, 2 e 3), o que demonstra a alta capacidade destes isolados em promover o crescimento da variedade de feijão avaliado neste estudo. De acordo com os dados pode-se considerar o isolado RM69 como um excelente candidato para testes de confirmação de eficiência a campo. O teste de

eficiência à campo deve ser realizado devido aos vários fatores que podem afetar a eficiência de um isolado, como cultivar utilizada, fatores edafo-climáticos, competição com rizóbios nativos, dentre outros, fazendo com que um isolado que apresentou boa eficiência em ambiente controlado não o repita a campo (OLIVEIRA et al., 2011; OLIVEIRA, 2014; DE BRITO et al., 2015). Fonseca et al. (2013) avaliando a resposta de cultivares de feijoeiro-comum à inoculação das sementes com duas estirpes de rizóbio (CIAT 899 e UFLA 04-173) verificou que os resultados foram muito variáveis em função da cultivar utilizada, sendo que para algumas cultivares o isolado UFLA 04-173 apresentando maior ANPA enquanto que para outras a CIAT 899, indicando a existência de uma relação entre a estirpe e a planta utilizada.

Os tratamentos que apresentaram NN e MSN alto também se destacaram para os parâmetros MSPA, ANPA e ES, o que indica que esses parâmetros estão correlacionados entre si. Encontrou-se uma correlação positiva entre NN e MSPA ($r = 0,56$; $p < 0,01$) e entre MSN e MSPA ($r = 0,72$; $p < 0,01$) do feijoeiro. Correlações positivas entre NN e MSPA e entre MSN e MSPA também foram encontradas por Melloni et al. (2006) e Marra (2009) em feijão-caupi, demonstrando a importância da nodulação para o desenvolvimento da cultura. Assim como para MSPA, deve-se lembrar que o NN e MSN também estão relacionados a produtividade de grãos no feijoeiro, como verificado por Zafar et al. (2012). Também foi verificada uma correlação significativa entre MSN e ANPA ($r = 0,70$; $p < 0,01$). Os tratamentos que apresentaram maior MSN (RM69 e CIAT 899) também apresentaram maior ANPA, demonstrando a importância da biomassa dos nódulos para a fixação de N e consequente melhor nutrição das plantas. Uma correlação positiva entre MSN e ANPA, como neste trabalho, também foi verificado por Döbereiner (1966), em experimento com soja, e confirmada por Lima et al. (2005) testando a eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* spp. isolados de solos da Amazônia em feijão-caupi.

O isolado RM69 e a estirpe CIAT 899 apresentam como características morfológicas em comum, colônias em forma circular, elevação convexa, superfície lisa e capacidade de acidificação do meio YMA. Porém essas bactérias diferem quanto à produção de muco, consistência da colônia, velocidade de crescimento, cor e borda da colônia (CANEI, 2014). Deve-se salientar que o isolado RM69 é proveniente de área de restinga marinha que apresenta solo bastante arenoso, susceptível a déficit hídrico e com baixos teores de matéria orgânica e nutrientes, características essas que podem conferir maior competitividade e adaptabilidade desse isolado, tornando-o promissor para a

realização de estudos futuros em diferentes condições à campo. Deve-se considerar a importância deste trabalho, visto que não foram encontrados trabalhos na literatura testando a eficiência de rizóbios isolados de áreas de restinga em leguminosas agrícolas. Novos estudos como esse devem ser realizados em busca de novos isolados eficientes para uso na agricultura, tanto para o feijão, como para outras leguminosas, tornando o modelo de agricultura atual mais sustentável.

Conclusões

Isolados de áreas de restinga são capazes de nodular o *Phaseolus vulgaris* cv. Tangará.

O isolado RM69 é eficiente na promoção de crescimento vegetal, acúmulo de nitrogênio na parte aérea e eficiência simbiótica do *Phaseolus vulgaris* cv. Tangará, apresentando comportamento semelhante à estirpe recomendada para a cultura.

O isolado RM69 mostrou-se promissor para uso em estudos futuros em diferentes condições à campo.

Bibliografia

AHEMAD, M.; KIBRET, M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. Journal of King Saud University-Science, v.26, n.1, p.1-20, 2014.

ANDRADE, M.J.B. de; ALVARENGA, P.E. de; SILVA, R. da; CARVALHO, J.G. de; JUNQUEIRA, A.D. de A. Resposta do feijoeiro às adubações nitrogenada e molíbdica e à inoculação com *Rhizobium tropici*. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v.25, n.4, p.934-940, 2001.

BONILHA, R.M.; CASAGRANDE, J.C.; SOARES, M.R.; REIS-DUARTE, R.M. Characterization of the soil fertility and root system of restinga forests. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, v.36, n.6, p.1804-1813, 2012.

DE BRITO, L.F.; PACHECO, R.S.; DE SOUZA FILHO, B.F.; FERREIRA, E.P.B.; STRALIOTTO, R.; ARAÚJO, A.P. Response of common bean to rhizobium inoculation

and supplemental mineral nitrogen in two brazilian biomes. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v.39, n.4, p.981-992, 2015.

CANEI, A.D. Avaliação da diversidade de rizóbios de áreas de restinga da Unidade de Conservação Ambiental do Parque Estadual do Rio Vermelho, Florianópolis, SC. Florianópolis: UFSC, 2014. 57p. (Trabalho de Conclusão de Curso).

CARNEIRO, J.E.S.; JÚNIOR, T.J.P.; BORÉM, A. Feijão – do Plantio à Colheita. Viçosa: Editora UFV, 2015. 384p.

CHAGAS JUNIOR, A.F.; DE OLIVEIRA, L.A.; DE OLIVEIRA, A.N. Caracterização fenotípica de rizóbio nativos isolados de solos da Amazônia e eficiência simbiótica em feijão caupi. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v. 32, n.1, p.161-169, 2010.

CHEN, X.C.; FENG, J.; HOU, B.H.; LI, F.Q.; LI, Q.; HONG, G.F. Modulating DNA bending affects NodD-mediated transcriptional control in *Rhizobium leguminosarum*. *Nucleic acids research*, v.33, n.8, p.2540-2548, 2005.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Feijão, Safra 2014/2015. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&ordem=produto>>. Acesso em: 15 de outubro de 2015.

DILWORTH, M.J.; JAMES, E.K.; SPRENT, J.I.; NEWTON, W.E. Nitrogen-fixing leguminous symbioses. Vol. 7. Springer Science & Business Media, 2008.

DOBEREINER, J. Evaluation of nitrogen fixation in legumes by the regression of total plant nitrogen with nodule weight. *Nature*, v.210, p.850-852, 1966.

DOURADO NETO, D.; FANCELLI, A.L. Produção de Feijão. Guaíba: Agropecuária, 2000.

FERREIRA, A.C.B.; ANDRADE, M.J.B.; ARAÚJO, G.A.A. A nutrição e adubação do feijoeiro. *Informe Agropecuário, Belo Horizonte*, v.25, n.223, p.61-72, 2004.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.

FERREIRA, F.A.C. Projeto Parque Estadual do Rio Vermelho: Subsídios ao plano de manejo. Florianópolis: Insular, 2010. 196p.

FERREIRA, P.A.A.; SILVA, M.A.P.; CASSETARI, A.; RUFINI, M.; MOREIRA, F.M.D.S.; ANDRADE, M.J.B. Inoculação com cepas de rizóbio na cultura do feijoeiro. *Ciência Rural*, v.39, n.7, p.2210-2212, 2009.

FONSECA, G.G.; OLIVEIRA, D.P.; SOARES, B.L.; FERREIRA, P.A.A.; TEIXEIRA, C.M.; MARTINS, F.A.D.; DE ANDRADE, M.J.B. Resposta de cultivares de feijoeiro-comum à inoculação das sementes com duas estirpes de rizóbio. *Bioscience Journal*, v.29, n.6, 2013.

FUKAKI, H.; OKUSHIMA, Y.; TASAKA, M. Auxin-Mediated Lateral Root Formation in Higher Plants. *International review of cytology*, v.256, p.111-137, 2007.

HOAGLAND, D.; ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soil. *California Agriculture Experimental Station Circular*, 1950. 347p.

IAPAR – Instituto Agrônomo do Paraná. Principais Características das cultivares de feijão com sementes disponíveis no mercado. 2015. Disponível em: <<http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=1363>>. Acesso em: 14 de março de 2015.

JIN, J.; WATT, M.; MATHESIU, U. The autoregulation gene SUNN mediates changes in root organ formation in response to nitrogen through alteration of shoot-to-root auxin transport. *Plant physiology*, v.159, n.1, p.489-500, 2012.

LIMA, A.S.; PEREIRA, J.P.A.R.; MOREIRA, F.D.S. Diversidade fenotípica e eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* spp. de solos da Amazônia. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.40, n.11, p.1095-1104, 2005.

LIU, J.; UM, X.; CHENG, L.; CHEN, F.; BAO, J.; YUAN, L.; ZHANG, F.; MI, G. Auxin transport in maize roots in response to localized nitrate supply. *Annals of Botany*, v.106, n.6, p.1019-1026, 2010.

KUDOYAROVA, G.R.; FARKHUTDINOV, R.G.; VESELOV, S.Y. Comparison of the effects of nitrate and ammonium forms of nitrogen on auxin content in roots and the

growth of plants under different temperature conditions. *Plant Growth Regulation*, v.23, n.3, p.207-208, 1997.

MAGNAGO, L.F.S.; MARTINS, S.V.; SCHAEFER, C.E.G.R.; NERI, A.V. Gradiente fitofisionômico-edáfico em formações florestais de Restinga no Sudeste do Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, v.24, n.3, p.734-746, 2010.

MARRA, L.M. Fixação biológica de nitrogênio e solubilização de fosfatos por bactérias isoladas de nódulos de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. Lavras: UFLA, 2014. 87p.

MARSCHNER, H. Marschner's mineral nutrition of higher plants. Academic press, 2012.

MELO JÚNIOR, J.C.F.; BOEGER, M.R.T. Richness, structure, and edaphic interactions in the restinga gradient of Parque Estadual do Acaraí, Santa Catarina State, Brazil. *Hoehnea*, v.42, n.2, p.207-232, 2015.

MELLONI, R.; MOREIRA, F.M.S.; NOBREGA, R.S.A.; SIQUEIRA, J.O. de. Eficiência e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas que nodulam caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em solos de mineração de bauxita em reabilitação. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v.30, n.2, p.235-246, 2006.

MERCANTE, F.M.; TEIXEIRA, M.G.; ABBOUD, A.C.S.; FRANCO, A.A. Avanços biotecnológicos na cultura do feijoeiro sob condições simbióticas. *Revista Universidade Rural: série ciência da vida*, v.21, n.1/2, p.127-146, 1999.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Microbiologia e bioquímica do solo. Lavras: UFLA, 2006. 729p.

OLIVEIRA, J.P.; GALLI-TERASAWA, L.; GLIENKE, C.; KAVA-CORDEIRO, V.; ARMSTRONG, L.C.T.; HUNGRIA, M. Genetic diversity of rhizobia in a Brazilian oxisol nodulating Mesoamerican and Andean genotypes of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v.27, p.643-650, 2011.

OLIVEIRA, J.P.D. Caracterização morfofisiológica, molecular e simbiótica de rizóbios e bactérias presentes em nódulos de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) em diferentes sistemas de cultivo. Curitiba: UFPR, 2014. 94p.

PELEGRIN, R. de; MERCANTE, F.M.; OTSUBO, I.M.N.; OTSUBO, A.A. Resposta da cultura do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação com rizóbio. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.33, p.219-226, 2009.

SALVADOR, C.A. Análise da Conjuntura Agropecuária Safra 2014/2015. Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Paraná. Política Agrícola. 2014. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/feijao_2014_15.pdf>. Acesso em: 15 de agosto de 2015.

SCARANO, F.R.; DUARTE, H.M.; RIBEIRO, K.T.; RODRIGUES, P.J.F.P.; BARCELLOS, E.M.B.; FRANCO, A.C.; BRULFERT, J.; DELEÂENS, E.; LUÈTTGE, U. Four sites with contrasting environmental stress in southeastern Brazil: relations of species, life form diversity, and geographical distribution to ecophysiological parameters. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v.136, p.345-364, 2001.

SILVA, E.F. da; MARCHETTI, M.E.; SOUZA, L.C.F. de; MERCANTE, F.M.; RODRIGUES, E.T.; VITORINO, A.C.T. Inoculação do feijoeiro com *Rhizobium tropici* associada a exsudato de *Mimosa flocculosa* com diferentes doses de nitrogênio. *Bragantia*, v.68, p.443-451, 2009.

SOMMER, S.; ROSATELLI, J.S. Mapeamento temático do município de Florianópolis: solos. Síntese Temática. Florianópolis. IBGE: IFUF, 30p. 1991.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 5.ed. Porto Alegre, ArtMed, 2013. 954p.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. Análise de solo, plantas e outros materiais. 2.ed. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174p.

THAJUDDIN, N.; MURALITHARAN, G.; DHANASEKARAN, D.; MUHAMMAD, I.M.H. Microbial symbionts of plants. *Plant biology and biotechnology: Plant diversity, organization, function and improvement*, p. 281-306, 2015.

VITOUSEK, P.M.; MENGE, D.N.; REED, S.C.; CLEVELAND, C.C. Biological nitrogen fixation: rates, patterns and ecological controls in terrestrial ecosystems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v.368, n.1621, p.20130119, 2013.

VINCENT, J.M. A manual for practical study of root nodule bacteria. New York: Blackwell Scientific Publication, 1970. 140p.

ZAFAR, M.; ABBASI, M.K.; KHAN, M.A.; KHALIQ, A.; SULTAN, T.; ASLAM, M. Effect of plant growth-promoting rhizobacteria on growth, nodulation and nutrient accumulation of lentil under controlled conditions. *Pedosphere*, v.22, n.6, p.848-859, 2012.